

# Aminophosphonic Acids 화합물의 생물학적 기능연구

이화여자대학교 가정대학 식품영양학과

김 속 희

## Study of Synthesis and Biological Function on Aminophosphonic Acids

Sook He, Kim.

*Department of Foods and Nutrition, College of Home Economic,  
Ewha Womans University*

### Summary

Since  $\beta$ -aminoethylphosphonic acid was discovered in the living organism, the biosynthesis and biological function of aminophosphonic acids have been extensively studied.

The purpose of this project consists in the two parts: 1) the preparation of DL-1-amino-2-phenylethylphosphonic acid (Phenylalanine aminophosphonic acid) and DL-1-amino-3-methylbutylphosphonic acid (Isoleucine aminophosphonic acid) by the method of Chamber and Isbell. 2) the study of metabolism and biological functions of those synthetic materials by the animal experiment (white rats)

The importance of this project proved to be the first experience fed by animals for the elucidation of biochemical and metabolic functions in the animal body.

The following organic synthesis of DL-1-amino-3-methylbutylphosphonic acid and DL-1-amino-2-phenylethylphosphonic acid are studied.

- 1) Synthesis of DL-1-amino-3-methylbutylphosphonic acid
  - a) Synthesis of Iso-butylbromide
  - b) Synthesis of Ethyl iso-butylmalonate
  - c) Synthesis of Iso-caproic acid
  - d) Synthesis of Ethyl- $\alpha$ -bromo iso-caproate
  - e) Synthesis of Triethyl- $\alpha$ -phosphono iso-caproate
  - f) Synthesis of DL-1-amino-3-methylbutylphosphonic acid
- 2) Synthesis of DL-1-amino-2-phenylethylphosphonic acid
  - a) Synthesis of Diethyl phosphite
  - b) Synthesis of Ethylchloro acetate
  - c) Synthesis of Triethyl phospho acetate
  - d) Synthesis of Triethyl benzyl phospho acetate
  - e) Synthesis of DL-1-amino-2-phenylethylphosphonic acid

The synthetic compounds; DL-1-amino-3-methylbutylphosphonic acid and DL-1-amino-2-phenylethylphosphonic acid which are essential amino acid (isoleucine, phenylalanine) analogue are supplemented to the animal diet at the level of 0.2% and 0.4% for isoleucine analogue and 0.35% and 0.7% for phenylalanine analogue.

The plain isoleucine and phenylalanine at the same level in the diet are facilitated as comparable groups

in this study.

Two sets of experience including 100 male rats were carried out for seven weeks each total 14 weeks. During this period, urine samples, and each big organs were collected for the analysis of total nitrogen, phosphorus, and glycogen contents in the individual samples by Micro Kjeldahl<sup>13)</sup> Fisk & Subbarow<sup>14)</sup> and Nelson Somogye<sup>11, 18)</sup> method.

### 1) The result of the project

- a) The yield of DL-1-amino-3-methylbutylphosphonic acid and DL-1-amino-2-phenylethylphosphonic acid showed low tendency at the level of 12.5% and 20% Melting point of those two compounds were very high and the  $\alpha$ -amino group in the synthetic compounds showed positive reaction with ninhydrin in the violet color.
- b) All the experimental groups included in this study revealed statistically no significant difference in the organ weight, total body nitrogen retention and urinary phosphorus excretion This means isoleucine aminophosphonic acid and Phenylalanine aminophosphonic acid were utilized in the body as much as the plain amino acids, isoleucine and phenylalanine did.
- c) The glycogen contents in the liver of the phenylalanine aminophosphonic acid group showed higher statistically significant ( $p > 0.05$ ) in the comparison with the group of the Phenylalanine and the Standard-2.

It was noteworthy that the higher glycogen content in the liver might indicate the significance in the incorporation of phenylalanine aminophosphonic acid into the intermediate of tricarboxylic acid cycle as activated state.

## 서 론

1959년 일본 동경대학 농학부 영양화학교실 Horiguchi<sup>5)</sup>에 의하여 2-aminoethylphosphonic acid가 양의 반추물 중에서 발견된 이후로 생체내에서 amino-phosphonic acid가 존재하고 있다는 확증이 이루어지고 이의 생화학적 역할에 대하여 주목을 끌게 되었다.

그후 우유의 분유중에서도 2-aminoethylphosphonic acid가 발견되었고 이 화합물이 쥐의 소화기관을 통하여 흡수되고 체내에서 phospholipids와 서로 작용된다는 사실도 밝혀졌다<sup>7)</sup>.

H. Rosenberg<sup>15)</sup>와 공동연구자들은 미생물 중에서 aminophosphonate의 생합성에 관해서 1967년 8월 동경에서 열린 International Congress of Biochemistry에서 발표한 바 있다. 한편 Kittridge at Hughes<sup>9)</sup>에 의하여 Zoanthid Zoanthas Sociatas의 물-에칠알콜 추출액에서 2-amino-3-phosphonopropionic acid가 발견되었으나 저자들은 이 화합물이 부제탄소가 있음에도 불구하고 그 광학적 이성체는 분리하지 않았다.

어떤 Aminophosphonic acid가 실지로 생화학적 기능이 있다는 보고가 이미 발표된 바 있다<sup>12, 16, 19)</sup> 계속해서 2-aminoethylphosphonic acid가 생물조직에서

유리된 사실이 L.D.Quin<sup>14, 19)</sup>과 J.S.Kittridge와그 공동연구자들에 의하여 발표된 바 있다<sup>10)</sup>.

자연에 존재하는 아미노산은 일반적으로 광학적 활성이고 생물조직내에서 중요한 생화학적 기능율이 많은 화합물은 대개 광학적 이성체라는 사실은 많이 알려졌다.

따라서 이러한 일련의 사실에 비추어 Chambers와 Isbell<sup>6)</sup>은 aminophosphonic acid를 합성하는 새로운 방법을 전개하고 여러가지의 새로운 aminophosphonic acid를 합성했으며 자연에 존재하는 아미노산 중에서 광학적 활성을 갖고있는 가장 단순한 산인 alanine에 해당한 1-aminoethylphosphonic acid를 합성하고 N-benzoye 유도체의 Brucine염의 분별결정에 의하여 (+)-1-amino ethyl phosponic acid를 순수하게 분리하였다<sup>8, 7)</sup>.

아미노산이 생화학적 기능이 큰것에 비추어 이 아미노산에 해당하는 aminophosphonic acid도 생화학적 기능이 있으리라는 가능성이 많은 것으로 기대되고 있다.

Aminophosphonic acid의 C-P bond가 biosynthesis되는지에 대한 연구는 몇 연구실에서 행해지고 있지만 아직 이렇다하는 결과가 나타나고 있지 않다.

Rosenberg, H<sup>15)</sup> 는 Bacteria 내에서 AEP source의 phosphorus가 phospholipid의 phosphorus source로써 incorporation됨이 밝혀졌으며 또한 AEP의 carbon skeletal이 glycolytic intermediate로서 고려하는 경향이 크다고 하였다.

본 연구실에서 1967년에 AEP의 유기합성과 아울러서 동물에게 짧은기간 동안 사육해 본 결과 동물체내에서 P가 이용됨이 밝혀졌다. 그후 1969년 본 연구실에서 김, 조<sup>8)</sup> 양씨에 의해서 AEP의 장기간 동물사육결과 역시 체내에서 이용됨을 밝혔다.

본 연구실에서는 지금까지의 경험으로 보면 AEP는 아미노산중 alanine의 analogue로서 필수 아미노산이 아니므로 인체의 필수 아미노산 analogue인 isoleucine과 phenylalanine에 해당하는 phosphonic acid를 유기 합성하였다. 그리하여 생체에 중요한 영양적 가치가 있는 필수아미노산에 해당하는 phosphonic acid를 동물생체에 적용시켜 보는것은 본 연구가 최초로 시도된 것이었으며 이의 생체내 기능을 규명하려고 하는데 그 목적이 있다.

본 연구의 시도가 최초의 시도이며 이 분야가 많은 학자들의 관심을 모으고 있음은 무시하지 못할 만큼 중요한 사실이며 이런 아미노산P 유도체가 생체내에서 이용됨이 증명될 때는 아미노산도 직접 생체내에서 phosphorylation 될 수 있지 않을까하는 생화학적으로 새로운 기전을 규명하게 될 중요한 계기가 될 것으로 본다.

## 연구 방법

### 1. Aminophosphonic acid의 유기합성

다음의 경로로 D, L-l-amino-3-methylbutylphosphonic acid와 D, L-l-amino-2-phenylethylphosphonic acid 합성을 하였다.

가. D, L-l-amino-3-methylbutylphosphonic acid의 합성은 아래의 경로를 거쳐서 합성하였다.

- ① Iso-butyl bromide 합성<sup>4)</sup>
- ② Ethyl iso-butylmalonate 합성<sup>3)</sup>
- ③ Iso-caproic acid 합성
- ④ Ethyl- $\alpha$ -bromo iso-caproate 합성<sup>17)</sup>
- ⑤ Triethyl- $\alpha$ -phosphono iso-caproate 합성<sup>1)</sup>
- ⑥ D, L-l-amino-3-methylbutylphosphonic acid 합성<sup>2)</sup>

나. D, L-l-2-phenylethylphosphonic acid 합성은 다음 경로를 거쳐서 하였다.

- ① Diethyl phosphite 합성
- ② Ethylchloro acetate 합성
- ③ Triethyl phospho acetate 합성
- ④ Triethyl benzyl phospho acetate 합성
- ⑤ D, L-l-amino-2-phenylethylphosphonic acid 합성

## 2. 동물사육 실험

### 가. Isoleucine에 해당하는 Aminophosphonic acid의 동물 사육 실험

평균 50g의 숫쥐(Albino rat) 50마리를 각 열마리씩 5군으로 나누어서 <표 1>과 같이 사육하였다.

사료는 무게  $160 \pm 1.2$ 되기까지 20% Sugar-Casein diet으로 ad libitum으로 사육하였다. 매주 1회씩 몸무게를 측정하였다.

Aminophosphonic acid의 첨가는 Diet에 0.2%와 0.4% level로 10일간 첨가했으며 비교군으로 Isoleucine 0.2%와 0.4%로서 같은 기간 첨가하였다.

노의 채취는 몸무게 평균 100g에서 제1회 채취하여 첨가제 첨가전의 노 sample로 하였으며 첨가제 첨가완료직후에 노채취를 하여서 첨가후의 노 sample로 사용하였다. 채취된 노 sample은 Micro-kjeldahl<sup>13)</sup> 법에 의해서 노 배설 질소량을 측정하였으며 Fisk and subbarow Method<sup>14)</sup>에 의해 노 배설 P를 측정 하였다.

사육후 동물은 ether마취에 의해 희생시켜서 liver, spleen, heart, kidney, adrenals, sex organs, brain 등을 채취하였다.

필요량의 간을 평량하여 dry oven에 말린후 분말로 만들어서 Micro-kjeldahl method<sup>13)</sup> 총질소 측정에 의해서 총 질소량 측정용으로 사용했으며 나머지는 tissue grinder에 의해서 homogenation하여서 Fisk and subbarow Method<sup>14)</sup>에 의해서 TotalP의 양을 측정하였다.

### 나. Phenylalanine에 해당하는 Aminophosphonic acid의 동물 사육 실험

평균 84g의 숫쥐(Albino rat) 50마리를 각 10마리씩 5군으로 나누어 <표 2>와 같이 사육하였다.

사료는 무게  $183 \pm 2.2$ 되기까지 5주간은 20% Casein diet으로 ad libitum으로 사육하였다. 매주 1회 몸무게를 측정하였다. Aminophosphonic acid는 6주째부터 0.35%와 0.7% level로 8일간 첨가했으며 비교군으로 Phenylalanine 0.35%와 0.7%로서 같은기간 첨부하였다.

노의 채취는 투약직전에 1회, 투약시 1회, 투약후 1회 채취하여 첨가제 투약시와 전후의 sample로 사용

하였다.

채취된 노 sample은 Micro-kjeldahl method<sup>(13)</sup>에 의해 체내 질소 보유율을 측정하였으며 Fisk and subbarow method<sup>(14)</sup>에 의해 노 배설 P를 측정하였다.

사육후 동물은 ether마취로 희생시켜서 liver, spleen, heart, kidney, adrenals, sex organs, brain을 채취하였다.

fresh한 liver tissue를 소량 취하여 dry oven에 말

린후 분말로 만들어서 Micro-kjeldahl method<sup>(13)</sup>로 총 질소량을 측정하였으며 나머지 liver는 tissue grinder에 의해서 homogenation하여서 Fisk and Subbarow<sup>(14)</sup>에 의해서 Total inorganic P를 측정하였으며 30% KOH solution에 녹여서 95% alcohol 세척과 원심분리를 하여서 glycogen을 유리한 후 Nelson-Somogy<sup>11, 18)</sup> 법에 의하여 총 glycogen량을 측정하였다.

표 1 실험 동물 군 내용

Group 명	diet 성분+첨가물 투여량	No.
A-1	Sugar-cagein20% + D. L-1-Amino-3-methylbutylphosphonic acid 0.2%	10마리
B-1	Sugar-Casein 20% + D. L-1-Amino-3-methylbutylphosphonic acid 0.4%	"
C-1	Sugar-Casein 20% + Isoleucine 0.2%	"
D-1	Sugar-Casein 20% + Isoleucine 0.4%	"
Standard-1	Sugar-Casein 20% diet	"

표 2 실험 동물 군 내용

Group	diet 성분+첨가물 투여량	No.
A-2	Sugar-Casein 20% + D. L-1-Amino-2-phenylethylphosphonic acid 0.35%	10마리
B-2	Sugar-Casein 20% + D. L-1-Amino-2-phenylethylphosphonic acid 0.7%	"
C-2	Sugar-Casein20% + 0.35% Phenylalanine	"
D-2	Sugar-Casein20% + 0.7% Phenylalanine	"
Standard-2	Sugar-Casein20% diet	"

## 결과 및 고찰

### 1. 합성 부분

수술에 가장 큰 영향을 준 반응은 triethyl benzyl phospho acetate와 hydrazine과의 축합반응이었다. 이 반응은 발열반응이었으며, 또한 반응온도를 40~45°C로 유지 시킴으로써 더욱 높은 수율을 얻을 수 있었다.

마지막 단계에서 염산으로 가수분해 시킨 뒤 생성된 염산염은 propylene oxide를 alcohol용액중에 적가시킴으로써 HCl을 완전분리 하였다.

이때 반응용액(alcohol 용액)이 Cl<sup>-</sup> ion test에 음성이 나타날 때까지 propylene oxide를 가하였다.

일반적으로 아미노산들이 높은 용점을 나타내는 바와 같이 본 실험에서 합성한 Aminophosphonic acid들도 높은 용점을 보여주었다. 이는 그 분자구조내에 Inner salt(Zwitter ion)를 형성하는 때문인 것으로 추측된다. 본 실험에서 합성한 Isoleucine analogue, Phenylalanine analogue는 모두 물에 용해하였으나 ethyl alcohol, ether, aceton, ethyl acetate, CCl<sub>4</sub>, CHCl<sub>3</sub>, benzene 등의 유기용매에 용해하지 않았다.

일반적으로 α-amino acid들이 Ninhydrin 반응해서 청자색을 나타내었던 바와 같이 이번에 합성한 D. L-α-aminophosphonic acid들도 Ninhydrin test에 청자색을 나타내었다.

## 2. 동물 사육 부문

Isoleucine aminophosphonic acid의 첨가군 (A-1, B-1)과 비교군 사이의 식이 섭취량에는 현저한 차이가 없었으며 따라서 몸무게 증가율에도 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

그러나 표준군에 비교해 보면 0.4% Isoleucine aminophosphonic acid 첨가군(B-1)이 이 점에 있어서 가장 낮았으며 0.2% Isoleucine aminophosphonic acid 첨가군 (A-1)은 Isoleucine 첨가군(C-1,D-1)과 비교해 볼때 큰 차이가 없었다.

Phenylalanine aminophosphonic acid의 첨가군 (A-2, B-2)과 비교군사이의 식이 섭취량에도 현저한 차이가 없었으며 따라서 이 경우에도 몸무게 증가율은 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

Isoleucine의 경우와 달리 Phenylalanine aminophosphonic acid 0.7% 첨가군(B-2)과 0.35% 첨가군(A-) 사이에는 몸무게 증가에 있어서 큰 차이를 나타내

지 않았다.

표 3에 의하면 간의 무게에 있어서 Isoleucine aminophosphonic acid 첨가군(A-1,B-1)이 적은 감소를 보였지만 유의적인 차이는 없었다. 기타 testes, 심장, 신장등 각군 사이는 큰 차이를 나타내지 않고 균등하였다.

그러나 spleen의 경우 통계적으로 유의하지는 않지만 약간의 감소경향을 나타내고 있다.

표 4에 의해서 보면 Phenylalanine aminophosphonic acid도 Isoleucine aminophosphonic acid와 같은 경향으로서 간무게에 있어서 P첨가군이 약간의 감소를 보이며 spleen의 무게에서도 P첨가군이 감소를 보였다.

그러나 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

그외의 장기의 무게에 있어서는 비교적 균등한 수치를 보이고 있었다.

표 3

Organs Weight(장기무게)

organ	group	A-1	B-1	C-1	D-1	Standard-1
liver		10.25±0.41	9.7±0.66	11.13±0.43	10.66±0.43	11.29±0.71
spleen		0.5655±0.041	0.5744±0.033	0.7726±0.034	0.6622±0.034	0.6880±0.040
heart		0.7653±0.032	0.7816±0.032	0.7899±0.031	0.7221±0.022	0.7747±0.022
kidneys		1.9719±0.043	1.9169±0.076	2.0934±0.030	1.9650±0.053	2.0214±0.098
adrenals		0.0347±0.001	0.0364±0.004	0.0312±0.003	0.0311±0.003	0.0316±0.005
brain		1.1814±0.05	1.1761±0.03	1.2232±0.03	1.2624±0.02	1.1529±0.03
sex organs		1.9719±0.15	1.9169±0.20	2.0251±0.07	1.9329±0.07	2.0314±0.05

표 4

Organs Weight (장기무게)

organ	group	A-2	B-2	C-2	D-2	Standard-2
liver		11.9±0.85	11.8±0.65	12.1±0.36	12.03±0.34	10.4±0.44
spleen		0.5454±0.049	0.5657±0.056	0.5787±0.039	0.5948±0.033	0.6537±0.041
heart		0.8276±0.027	0.8079±0.044	0.8594±0.022	0.8564±0.028	0.8054±0.020
kidneys		1.9394±0.100	1.9116±0.098	1.9743±0.049	2.0384±0.038	1.7539±0.014
adrenals		0.0352±0.003	0.0312±0.002	0.0373±0.002	0.0413±0.002	0.0358±0.001
brain		1.1848±0.03	1.2136±0.03	1.1605±0.01	1.2093±0.01	1.1497±0.02
sex organs		1.8415±0.10	1.9431±0.10	2.0139±0.05	1.8197±0.09	1.8187±0.05

표 5에서 보여주는 바와같이 체내질소 보유 백분율에 있어서 각 군사이에 현저한 차이가 없다.

Isoleucine aminophosphonic acid (A-1,B-1) 첨가군중에서 0.4%첨가군(B-1)이 첨가직후에 체내 질소

보유율은 증가경향이었으나 Standard-1에 비교해서 유의적인 차이를 보이지 않고 있다.

그러나 Isoleucine 첨가군(C-1,D-1)과 비교해 보면 Isoleucine aminophosphonic acid 첨가군(A-1,B-

1)이 약간은 증가되는 경향이나 통계적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다.

그러나 표 6에서 보여주는 바에 의하면 Phenylalanine aminophosphonic acid첨가군(A-2,B-2)이나 Phenylalanine첨가군(C-2,D-2)에 있어서 첨가직후에 체내 질소 보유율에 증가를 나타냈다.

그러나 Phenylalanine aminophosphonic acid 첨가군(A-2,B-2)이 Standard-2군과 비교해 볼때 더 높은 보유율을 나타내고 있다.

이상의 결과로 미루어 보면 Amino acid나 Isoleucine aminophosphonic acid는 Phenylalanine aminophosphonic acid 첨가로 인한 체내 unbalance를 초래하지 않고 있으며 Isoleucine aminophosphonic acid 보다도 Phenylalanine aminophosphonic acid 첨가가 체내 질소 보유율의 증가에 더 큰 효과를 나타냄을 보여 주었다.

총 P의 urine 배설량 측정에 의하면 첨가기간 동안인 2회에 배설량에 증가를 보였으며 첨가가 끝난후인 3회에는 약간의 감소경향을 보였지만 각 군간의 다양한 차이를 보여 주었다.

표 7에서 보여주는 바와같이 Isoleucine aminophosphonic acid 첨가군(A-1,B-1)에서 보면 첨가기간

동안인 2회에는 배설량이 증가했으며 많이 첨가될 B-1군이 더 큰 배설량을 보였다가 첨가기간이 끝난 후에는 감소를 하였다.

Isoleucine 첨가군(C-1,D-1)에 있어서는 첨가기간 동안이나 첨가가 끝난 후에도 큰 변동을 보이지 않고 있다.

그러나 표 8에서 보는 바와 같이 Phenylalanine aminophosphonic acid 첨가군(A-2,B-2)이나 Phenylalanine 첨가군(C-2,D-2)에서도 모두 P의 뇨배설량에는 현저한 차이를 나타내지 않고 있다.

첨가 기간 동안인 2회에 Phenylalanine aminophosphonic acid(A-2,B-2)나 Phenylalanine 첨가군(C-2,D-2)에 있어 약간의 증가를 보이고는 있으나 첨가사기가 끝난 3회에는 다 같이 감소하는 경향으로 나타났다.

이러한 모든 결과는 통계적인 유의성을 나타내지는 않았다.

이상의 결과로 보면 투여된 Aminophosphonic acid도 체내에 머물면서 일반 amino acid와 큰 차이없이 이용되고 있음을 미루어 알 수 있다.

간장내의 총 단백질량과 총P의 양을 비교해 보면

표 5 체내 질소 보유율 (%)

group		A-1	B-1	C-1	D-1	Standard-1
1	회	62.23±7.76	64.49±3.66	56.78±5.33	57.25±5.31	60.82±4.77
2	회	67.00±2.85	51.69±6.71	52.43±6.72	55.90±3.65	60.36±2.42
3	회	62.83±5.07	62.04±10.71	59.35±7.02	52.89±6.02	63.98±3.86

표 6 체내 질소 보유율 (%)

group		A-2	B-2	C-2	D-2	Standard-2
1	회	59.17±2.69	59.19±3.10	59.93±2.94	59.70±2.88	54.13±1.55
2	회	58.69±3.51	58.22±4.15	57.98±3.38	57.59±4.01	58.73±3.57
3	회	64.15±3.24	68.67±2.15	60.06±2.24	60.35±4.40	59.82±3.39

표 7 뇨를 통한 P의 배설량(mg/day)

Group		A-1	B-1	C-1	D-1	Standard-1
1	회	15.85±1.669	14.72±1.119	17.87±1.244	17.98±1.299	17.52±1.148
2	회	22.76±1.729	27.88±1.875	17.12±1.576	22.30±1.481	22.42±0.982
3	회	24.24±1.744	21.90±1.827	21.35±1.587	21.08±1.720	25.52±1.982

표 8

노를 통한 P의 배설량(mg/day)

Group		A-2	B-2	C-2	D-2	Standard-2
1	회	18.70±1.93	18.19±1.36	18.98±1.38	16.23±1.11	20.2±1.04
2	회	19.06±1.53	18.50±2.40	21.45±1.67	20.39±2.05	16.89±2.50
3	회	17.75±1.10	18.03±1.11	22.63±1.22	17.69±2.25	19.83±1.68

Isoleucine aminophosphonic acid 첨가군(A-1,B-1)이나 Phenylalanine aminophosphonic acid 첨가군(A-2,B-2)에 있어서 모두 다 큰 차이를 나타내지 않고 있다.

개별적으로 보면 표 9에 나타난 바와 같이 Isoleucine 첨가군(C-1,D-1)에서는 총P의 양에 있어서 Isoleucine aminophosphonic acid 첨가군(A-1,B-1)보다 적은 경향을 나타내고 있다.

그러나 Standard-1과 Isoleucine aminophosphonic acid 첨가군(A-1,B-1)과 비교해 보면 큰 차이를 보이지 않고 있다.

총 간단백질 함량에서도 Isoleucine 첨가군(C-1,D-1)이나 Isoleucine aminophosphonic acid 첨가군(A-1,B-1)이나 모두 Standard-1군과 비교해서 거의 같은 결과를 나타내고 있다.

표 10에서 보면 Phenylalanine aminophosphonic acid를 0.7% 첨가한 B-2군에서는 총P의 양의 감소를 보였으며 기타 군에서는 큰 차이를 나타내지 않고 있다.

그러나 모두 통계적인 유의성은 없었다. 또한 총 간단백질 함량에서 보면

표 9

간 조직내의 Inorganic P와 protein의 함량 (mg/lg fresh liver tissue)

	A-1	B-1	C-1	D-1	Standard-1
Total phosphorous	0.0658±0.0036	0.0688±0.0047	0.0427±0.0041	0.0581±0.0064	0.0682±0.0072
Protein	129.04±2.7	130.69±2.6	127.37±3.0	135.47±5.6	127.19±2.6

표 10

간 조직내의 Inorganic P와 protein의 함량 (mg/lg fresh liver tissue)

	A-2	B-2	C-2	D-2	Standard-2
Total phosphorous	0.0901±0.0084	0.06997±0.0061	0.09037±0.0074	0.11067±0.0040	0.08953±0.0056
Protein	105.19±3.1	110.89±3.2	110.64±1.2	112.64±4.9	112.77±2.6

표 11

간 조직내의 Glycogen 함량 (mg/lg fresh liver tissue)

	A-2	B-2	C-2	D-2	Standard-1
Glycogen	32.41±7.03	27.02±5.93	26.76±5.75	10.36±2.51	11.27±4.02

Phenylalanine 첨가군(C-2,D-2)이나 Phenylalanine aminophosphonic acid 첨가군(A-2,B-2)에서나 Standard-2군에서 모두 유의적인 차이를 보이지 않고 있다.

이상의 결과로 미루어 보면 Isoleucine aminophosphonic acid 첨가군(A-1,B-1)이나 Phenylalanine aminophosphonic acid 첨가군(A-2,B-2), 모두 다 체내에서 Isoleucine이나 Phenylalanine 못지 않게 liver

protein과 총 P으로 incorporation 됨이 밝혀졌다.

표 11에서 보면 liver glycogen의 함량은 Phenylalanine과 Phenylalanine aminophosphonic acid군에서 측정된 결과 Phenylalanine aminophosphonic acid 첨가군인 A-2,B-2군이 현저히 높으며 통계적으로 유의성을 나타내고 있다. (P>0.05)

이로 보면 phenylalanine 보다는 Phenylalanine aminophosphonic acid가 active state로서 간내에서 쉽게

이용되며 Rosenberg에 의해서 추측되었듯이 Phenylalanine aminophosphonic acid가 Tricarboxylic cycle의 intermediate로 incorporate되는 경향으로 나타났다.

## 요 약

Iso-butyl bromide의 합성을 시작으로 D.L-1-amino-3-methylbutylphosphonic acid의 합성을, Diethylphosphite의 합성을 시작으로 D.L-1-amino-2-phenyl ethylphosphonic acid의 합성을 하였다.

합성되어진 필수 아미노산인 Isoleucine analogue phosphonic acid는 각각 0.2%, 0.4%를 식이에 첨가했고 Phenylalanine analogue phosphonic acid는 0.35%와 0.7%를 각각 첨가하였으며 Standard-1과 Standard-2군과 비교군인 Isoleucine 0.2%와 0.4% Phenylalanine 0.35%와 0.7%군으로써 총 100마리의 숫쥐로 각 7주씩 14주의 사육 실험을 하였다.

동물 사육 기간내의 노채취와 사육후의 각 장기의 채취로써 총 질소와 P, glycogen측정을 시도하였다.

이러한 일련의 실험결과

① D.L-1-amino-3-methylbutylphosphonic acid나 D.L-1-amino-2-phenylethylphosphonic acid의 유기 합성에 있어서는 다 수율이 낮고 상당히 높은 융점을 보였으며  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>기가 Ninhydrin 반응에 예민했다.

② Aminophosphonic acid의 첨가군(D.L-1-amino-3-methylbutyl phosphonic acid, D.L-1-amino-2-Phenylethylphosphonic acid)에서나 Amino acid(Isoleucine, Phenylalanine)첨가군에 있어서 모든 장기의 무게, 총체내질소 보유율, 간장내 총단백질량과 인의양, 및 노를 통한 인의 배설량에 각각 큰 차이를 보이지 않았다. 이로 보아서 Phenylalanine Aminophosphonic acid나 Isoleucine aminophosphonic acid가 다 보통 아미노산인 Isoleucine이나 Phenylalanine에 못지않게 체내에서 이용됨이 밝혀졌다.

③ 그러나 Phenylalanine aminophosphonic acid 첨가군이 간의 glycogen 함량에 있어서 Phenylalanine 첨가군과 Standard군과 비교해 보았을때 높았으며 이는 통계적인 유의성을 나타냈다. (>0.05)

이는 Phenylalanine Aminophosphonic Acid가 active state로써 간내에서 쉽게 이용되어서 Tricarboxylic cycle의 intermediate로 incorporate되는 경향으로 생각 할 수 있다.

## References

- 1) Ackermann B. and R.H. Chalclerk; *J. Amer. Soc.* 79, 6524(1957)
- 2) Chamber J.R. and A.F. Isbell, *J. Org. Chem.* 29, 832(1964)
- 3) Gilman H. and A.H. Blatt, *Ibid.* p. 250
- 4) Gilman H. and A.H. Blatt, *Organic Synthesis, 2nd edition, Coll. Vol. 1 John Wiley and Sons, Ind. N.Y.U.S.A*(1956) p. 27
- 5) Horiguchi, M., and M. Kandatsu, *Nature*, 184;901(1959)
- 6) Isbell, A.F., *Abstr. 7th Intn'l Congress of Biochem.* 448(1967)
- 7) Kandatsu, M., M. Tamari, and M. Horiguchi, *Ann. Meeting Agric. Chem. Soc. Japan.*, 40(1964)
- 8) Kim, Sook He, and Jung Nam Cho, *The Korean Journal of Nutrition* Vol. 2, No. 4, p. 173(1969)
- 9) Kittridge, J.S. and R.R. Hughes, *Biochemistry* 3:991(1964)
- 10) Kittridge, J.S., E. Rabert and D.C. Simonsen *Biochem.* 1:624 (1962)
- 11) Nelson, *J. of Biochemistry* Vol. 158;375(1944)
- 12) Olarte, Jarge, *Ciencia(mex)*, 17:71(1957) *Chem. Abstr.* 52:8281a(1958)
- 13) Oser, *Hawk's physiological Chemistry* 14th ed. p.1081 *Mcgraw-hill Book Co.*
- 14) Quin, L. D., *Biochemistry*, 4:324(1965)
- 15) Rosenberg, H., Chi-Rong Liang and Julia M. La. Nauze, *Abstr. 7th Intn'l Congress of Biochem.*, 451(1967)
- 16) Ryzhkav, V.L., M.I. Kabachnick, L.M. Tarasevich, T. Ya., Medved, N. A., Zeithenok, N.K. Marchenko, V.A., Vagzhanava, E.F. Ulanava and N.V. Cheleurkina *Doklady Akad. Nauk, S.S.S.R.*, 98:849(1954), *Chem. Abstr.* 49:3404 b(1055)
- 17) Schotten C. Ber., 17, 2544(1884)
- 18) Somogye, *Biochemistry* Vol. 160:62(1945)
- 19) Thayer, J.D., H.J. Magnuson and M.S. Goravatt, *Authiotics and chemotherapy.* 3:256 (1953) *Chem. Abstr.* 47:10056 f(1953)